

Wpływ tylozyny i prebiotyków na wybrane parametry hematologiczne i stan zdrowotny cieląt

MONIKA SZYMAŃSKA-CZERWIŃSKA, DARIUSZ BEDNAREK

Zakład Chorób Bydła i Owiec Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Szymańska-Czerwińska M., Bednarek D.

Effect of tylosin and prebiotics on the selected haematological indices and health status of calves

Summary

The aim of the study was to estimate the effect of tylosin and prebiotics added to feed on the blood morphology and general health condition of calves. The experiment consisted of two independent stages: laboratory examinations and a field trial to determine the general health condition of the animals. The first stage of the experiment involved 36 clinically healthy calves, aged 6-8 weeks, and lasted 7 weeks. During that period, blood samples were taken from the animals twice a week, and routine haematological indices – i.e. RBC, HCT, MCV, HGB, MCH, MCHC, WBC, LYM, MID, PMNL, PTL and MPV – were determined. The results obtained in the first stage of the study showed a significant increase in the total number of leukocytes and some of their subsets, i.e. PMNL, and especially LYM and MID, in calves receiving prebiotics. Higher values of these indices were also noted in calves treated with tylosin. Distinct stimulating effects of both additives were also observed in some haematological parameters, such as RBC, HCT, HGB and PTL. In the field stage of the study the general health status of 120 calves was evaluated. The health status of the animals in experimental groups was satisfactory; on the other hand, a few control calves suffered from infectious respiratory problems, which had to be treated with antibiotics.

Keywords: tylosin, prebiotics, haematological indices, health status, calves

Od wielu lat prowadzone są badania nad biopreparatami mogącymi oddziaływać korzystnie na utrzymanie odpowiedniego stanu zdrowotnego i poprawę efektów produkcyjnych u zwierząt hodowlanych. Działanie takie wykazywały również, stosowane jeszcze do niedawna, antybiotykowe stymulatory wzrostu (ASW) (6). Jednak z uwagi na lawinowo narastające zjawisko lekooporności wśród drobnoustrojów chorobotwórczych dla różnego rodzaju antybiotyków stosowanych w praktyce hodowlanej, zostały one definitywnie wycofane z żywienia zwierząt (11). Po wycofaniu ASW zaistniał nowy problemem w żywieniu zwierząt gospodarskich związany z pogorszeniem się efektów hodowlanych i ogólnej ich zdrowotności (6, 11). Dlatego też pojawiła się potrzeba poszukiwania nowych alternatyw dla wycofanych ASW, najlepiej w postaci naturalnych substancji mogących zastąpić dotychczas stosowane. Pewne możliwości rysują się tutaj w odniesieniu do tzw. prebiotyków, probiotyków i synbiotyków. Wymagają one jednak dokładnego przebadania najlepiej w konfrontacji z tymi ASW, których stoso-

wanie u bydła wiązało się dotychczas z wymiernymi korzyściami. Przykładem takiego antybiotyku paszowego była m.in. tylozyna, która jako ASW wpływała korzystnie na poprawę przyrostów masy ciała i ogólną zdrowotność zwierząt. Ponadto jest ona nadal dość popularna, a dopuszczona ostatnio jako substancja czynna w tzw. paszach leczniczych (medicated feeding-stuffs), zalecana jest w terapii wybranych chorób zwierząt gospodarskich m.in. zzzn, mykoplazmowego zapalenia płuc, rozrostowego zapalenia jelit, dyzenterii świń, BRD oraz zakażenia *Arcanobacterium pyogenes* i *Fusiformis necrophorus* u bydła. Jednakże szczególne mechanizmy jej działania nie zostały dotychczas dokładnie poznane. Podobna sytuacja notowana jest też w przypadku niektórych prebiotyków podawanych zwierzętom, których rola biologiczna nie jest jeszcze w pełni znana, ale ich stosowanie stało się już praktyczną alternatywą dla ASW.

Dlatego też podjęto badania, których celem była ocena wpływu tylozyny i prebiotyków podawanych w paszy na wskaźniki hematologiczne (erytrocytarne,

trombocytarne, leukocytarne) i ogólny stan zdrowotny cieląt.

Niniejsze opracowanie stanowi kontynuację wcześniejszych badań w tym zakresie, w których oceniano wpływ tylozyny i prebiotyków na wybrane parametry odporności humoralnej oraz zmiany w subpopulacjach limfocytów krwi obwodowej cieląt (9, 10).

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 36 klinicznie zdrowych cieląt, rasy ncb w wieku 6-8 tygodni. Zwierzęta otrzymywały początkowo preparat mlekozastępczy w ilości 1,5 kg na zwierzę dziennie, a następnie, po okresie adaptacji, dodatkowo paszę treściwą CJ w ilości 2 kg/zwierzę dziennie z dodatkiem siana łąkowego (1,2 kg/zw/dz) oraz rośliny okopowej (1 kg/zw/dz).

Po dwutygodniowym okresie adaptacji zwierząt po transporcie zostały one podzielone losowo na trzy równe grupy ($n = 12$). Do grupy I zaliczono cielęta, które przez okres 7 tygodni otrzymywały paszę z dodatkiem premiksu Tylan G 100 (Elanco). Jeden kilogram premiksu zawiera 100 g substancji czynnej w postaci fosforanu tylozyny. Każdorazowo, w oparciu o ten premiks, przygotowywano cielętom w grupie I mieszankę paszy treściwej (CJ) z tylozyną. Podawano ją raz dziennie, na czczo, w godzinach porannych, a jednorazowa dzienna dawka tylozyny na zwierzę wynosiła 9,4 mg/kg m.c. Z kolei cielęta z drugiej grupy eksperymentalnej (gr. II) żywione były paszą CJ z dodatkiem prebiotyku w postaci preparatu Alphamune (Alpharma). Preparat ten zawiera w swoim składzie β -glukany (26%) i mannanooligosacharydy – MOS (28%), uzyskiwane ze ścian komórkowych drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Wspomniane prebiotyki podawano cielętom grupy II również przez 7 tygodni w jednorazowych, dziennych dawkach na zwierzę, odpowiednio: β -glukany – 49 mg/kg m.c. i MOS – 52 mg/kg m.c. Pozostałe zwierzęta, które stanowiły grupę kontrolną, żywione były tą samą mieszanką CJ bez wspomnianych wyżej dodatków.

Krew do badań laboratoryjnych pobierano od cieląt z żyły szyjnej zewnętrznej, przez okres 7 tygodni, dwukrotnie w ciągu tygodnia, zawsze w godzinach rannych, przed karmieniem zwierząt. Zbierano ją do probówek z antykoagulantem (EDTA- K_2 , 0,07 mmol/l ml). Badania układów: erytrocytarnego, trombocytarnego i leukocytarnego cieląt wykonano poprzez analizę: liczby erytrocytów (RBC), średniej objętości erytrocytu (MCV), stężenia hemoglobiny (HGB), hematokrytu (HCT), średniej masy i stężenia hemoglobiny (MCH, MCHC) oraz liczby płytek krwi (PTL) i ich średniej objętości (MPV). W badaniach układu białokrwinkowego cieląt oceniano następujące parametry: ogólną liczbę leukocytów (WBC) z analizą jakościową poszczególnych ich subpopulacji tj. z podziałem na limfocyty (LYM), granulocyty obojętnochłonne (PMNL) oraz komórki średniej wielkości tzw. MID (mid-size leukocytes). Ostatni z wymienionych parametrów, tj. wskaźnik MID stanowi sumaryczną wartość monocytów, bazofilów i eozynofiliów w jednostce objętości krwi. Badania te przeprowadzono przy użyciu analizatora hematologicznego AutoCounter

AC 920 (Swelab Instrument AB, Sweden) wyposażonego w panel dyskryminacji dla krwi bydlęcej.

Ocenę ogólnego stanu zdrowotnego cieląt otrzymujących dodatek tylozyny i prebiotyków w paszy przeprowadzono w warunkach terenowych, w drobnotowarowej fermie bydła specjalizującego się w hodowli cieląt i opasów, zlokalizowanej na terenie województwa lubelskiego. Przed rozpoczęciem właściwego doświadczenia cielęta rasy ncb w wieku kilku tygodni, w liczbie 120 sztuk, ocenione wstępnie jako zdrowe klinicznie, podzielono losowo na trzy równe grupy. Rodzaj poszczególnych grup zwierząt, tj. gr. I – tylozynowa, gr. II – prebiotyczna, gr. III – kontrolna, oraz ilość i sposób podawania im dodatków w paszy były analogiczne jak w pierwszym, eksperymentalnym etapie badań. Ocenę ogólnego stanu zdrowotnego cieląt w oparciu o rutynowe badania kliniczne oraz zmiany behawioru zwierząt wykonano bezpośrednio przed rozpoczęciem właściwego doświadczenia oraz w jego trakcie. Prowadzono systematyczną rejestrację podstawowych parametrów klinicznych (c.w.c., liczbę oddechów i tętna) ze szczególnym jednak zwróceniem uwagi na występowanie ewentualnych objawów chorobowych ze strony układu pokarmowego (biegunki) i oddechowego, konieczność podjęcia leczenia, a także liczbę upadków i wybrakowań zwierząt.

Otrzymane wyniki badań poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu Statgraphics Centurion. W celu porównania grup eksperymentalnych z grupą kontrolną wykonano analizę wariancji oraz wyznaczono najmniejsze istotne różnice typu LSD (last significant differences) R.A. Fishera na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i omówienie

Spośród badanych wskaźników czerwonekrwinkowych i płytek krwi zmiany istotne statystycznie wykazano w obrębie obu eksperymentalnych grup cieląt, tj. I i II w odniesieniu do liczby erytrocytów i płytek krwi oraz stężenia hemoglobiny, wartości HCT i MCHC (tab. 1, 2 i 3). W przypadku MCV różnicę istotną statystycznie zanotowano jedynie w 21. dniu obserwacji u cieląt z grupy I (tab. 1). Istotnie wyższe statystycznie w porównaniu do kontroli wartości liczby erytrocytów zarówno u cieląt grupy I, jak i II zanotowano od 7. do 16., a w grupie II również 21., 23., 35. i 44. dnia doświadczenia (tab. 1). Ponadto u cieląt z grupy I różnicę istotną statystycznie zaobserwowano również w 37. dniu doświadczenia. Natomiast istotnie wyższe wartości HCT u cieląt grupy I i II, oscylujące w granicach średnich od $0,262 \pm 0,013$ do $0,297 \pm 0,021$ l/l notowano wyłącznie od 7. do 16. dnia badania (tab. 1). Podobnie całkowite stężenie HGB we krwi zwierząt grupy I wykazywało znamienne wyższe wartości pomiędzy 7.-16. dniem obserwacji (tab. 2). Natomiast u cieląt z grupy II różnice istotne statystycznie obserwowano jeszcze w 21. dniu badania. Z kolei średnie wartości MCHC istotnie różniły się u cieląt grupy II w porównaniu do grupy kontrolnej w okresie od 16. do 28. dnia obserwacji, natomiast wskaźnik MCH po-

zostawał na poziomie porównywalnym do tej grupy (tab. 2). Istotnie wyższe wartości liczby płytek krwi zanotowano zarówno u cieląt grupy I, jak i II (tab. 3), przy czym u tej pierwszej była ona statystycznie znacząca tylko w 44. dniu badania, natomiast w gr. II

różniła się istotnie w całym okresie od 37. do ostatniego dnia badania.

Podawanie prebiotyków (gr. II) powodowało istotny wzrost ogólnej liczby leukocytów we krwi obwodowej cieląt w porównaniu z grupą kontrolną (tab. 4).

Tab. 1. Średnie wartości wskaźników układu erytrocytarnego u cieląt żywionych paszą z dodatkiem tylozyny (gr. I), prebiotyków (gr. II) i kontrolnych (gr. III) ($\bar{x} \pm SD$)

Dzień badania	RBC ($\times 10^{12}/l$)			Parametry HCT (l/l)			MCV (fl)		
	grupa			grupa			grupa		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
0	7,49 ± 0,32	7,34 ± 0,66	7,23 ± 0,57	0,263 ± 0,032	0,270 ± 0,007	0,259 ± 0,049	34,67 ± 1,15	35,33 ± 0,58	34,00 ± 1,00
2	7,71 ± 0,44	7,45 ± 0,18	7,30 ± 0,53	0,273 ± 0,014	0,268 ± 0,026	0,236 ± 0,008	35,00 ± 1,00	35,33 ± 1,15	34,33 ± 0,57
7	7,63 ± 0,45*	7,78 ± 0,28*	6,48 ± 0,31	0,282 ± 0,022*	0,297 ± 0,021*	0,220 ± 0,010	35,67 ± 0,58	35,00 ± 1,00	34,67 ± 1,15
9	7,38 ± 0,02*	7,74 ± 0,54*	6,56 ± 0,33	0,254 ± 0,008*	0,280 ± 0,010*	0,212 ± 0,003	35,33 ± 0,58	35,00 ± 1,00	34,00 ± 1,00
14	7,43 ± 0,35*	7,78 ± 0,29*	6,82 ± 0,10	0,265 ± 0,022*	0,292 ± 0,023*	0,213 ± 0,010	35,00 ± 1,00	35,33 ± 0,58	34,33 ± 0,58
16	7,75 ± 0,22*	7,77 ± 0,35*	6,84 ± 0,31	0,262 ± 0,013*	0,291 ± 0,019*	0,220 ± 0,015	36,00 ± 1,00	35,67 ± 1,15	34,67 ± 0,58
21	7,40 ± 0,17	7,71 ± 0,26*	6,74 ± 0,60	0,266 ± 0,004	0,260 ± 0,017	0,214 ± 0,041	36,00 ± 1,00*	35,67 ± 0,58	34,33 ± 0,58
23	7,65 ± 0,41	7,73 ± 0,29*	6,97 ± 0,33	0,262 ± 0,017	0,286 ± 0,035	0,219 ± 0,044	35,67 ± 1,53	36,33 ± 0,58	34,67 ± 1,15
28	7,36 ± 0,36	7,57 ± 0,24	6,79 ± 0,51	0,257 ± 0,018	0,263 ± 0,001	0,217 ± 0,034	35,67 ± 1,15	36,33 ± 0,58	35,33 ± 0,58
30	7,35 ± 0,68	7,55 ± 0,11	6,60 ± 0,52	0,264 ± 0,021	0,260 ± 0,018	0,215 ± 0,065	36,00 ± 1,73	36,33 ± 0,58	34,67 ± 1,15
35	7,16 ± 0,28	7,37 ± 0,22*	6,83 ± 0,30	0,260 ± 0,016	0,257 ± 0,023	0,235 ± 0,021	36,33 ± 1,53	36,67 ± 1,15	35,00 ± 1,00
37	7,51 ± 0,53*	7,45 ± 0,44	6,57 ± 0,40	0,270 ± 0,024	0,259 ± 0,019	0,244 ± 0,013	36,00 ± 1,00	36,67 ± 0,58	35,00 ± 1,00
42	7,35 ± 0,68	7,74 ± 0,40	6,95 ± 0,41	0,268 ± 0,039	0,257 ± 0,015	0,245 ± 0,011	36,33 ± 2,52	37,00 ± 1,00	35,33 ± 1,53
44	7,14 ± 0,20	7,55 ± 0,06*	7,03 ± 0,15	0,267 ± 0,024	0,260 ± 0,005	0,255 ± 0,013	37,33 ± 2,31	37,00 ± 1,00	35,33 ± 2,08

Objaśnienie: * – różnice istotne statystycznie przy $p \leq 0,05$ w porównaniu do grupy kontrolnej

Tab. 2. Średnie wartości wskaźników układu erytrocytarnego u cieląt żywionych paszą z dodatkiem tylozyny (gr. I), prebiotyków (gr. II) i kontrolnych (gr. III) ($\bar{x} \pm SD$)

Dzień badania	HGB (mmol/l)			Parametry MCH (fmol)			MCHC (mol/l)		
	grupa			grupa			grupa		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
0	5,70 ± 0,17	5,43 ± 0,50	5,53 ± 0,71	0,73 ± 0,06	0,73 ± 0,05	0,73 ± 0,05	21,63 ± 0,15	20,90 ± 0,44	22,33 ± 1,07
2	5,87 ± 0,31	5,30 ± 0,82	5,36 ± 0,49	0,73 ± 0,06	0,73 ± 0,05	0,67 ± 0,05	21,13 ± 0,74	20,40 ± 0,46	21,77 ± 1,27
7	5,77 ± 0,23*	5,40 ± 0,26*	4,70 ± 0,23	0,73 ± 0,06	0,73 ± 0,05	0,73 ± 0,05	20,43 ± 0,23	20,20 ± 0,56	21,17 ± 1,31
9	5,83 ± 0,15*	5,80 ± 0,46*	4,54 ± 0,20	0,73 ± 0,06	0,73 ± 0,05	0,73 ± 0,05	20,77 ± 0,67	21,50 ± 1,14	22,10 ± 1,81
14	5,77 ± 0,32*	5,97 ± 0,06*	4,64 ± 0,49	0,73 ± 0,06	0,73 ± 0,05	0,73 ± 0,05	22,10 ± 0,89	20,53 ± 0,21	21,80 ± 1,14
16	5,60 ± 0,30*	5,70 ± 0,17*	4,71 ± 0,62	0,73 ± 0,06	0,67 ± 0,05	0,73 ± 0,05	20,43 ± 0,23	19,70 ± 0,56*	21,37 ± 0,54
21	5,47 ± 0,21	5,67 ± 0,15*	4,66 ± 0,74	0,73 ± 0,06	0,67 ± 0,50	0,73 ± 0,05	20,47 ± 0,57	19,70 ± 0,56*	21,40 ± 0,59
23	5,53 ± 0,35	5,57 ± 0,25	4,69 ± 0,81	0,73 ± 0,06	0,67 ± 0,50	0,73 ± 0,05	20,23 ± 0,60	19,73 ± 0,84*	21,50 ± 0,85
28	5,23 ± 0,55	5,07 ± 0,06	4,53 ± 0,58	0,67 ± 0,06	0,63 ± 0,05	0,73 ± 0,05	20,33 ± 0,95	19,20 ± 0,40*	20,90 ± 0,65
30	5,30 ± 0,61	5,30 ± 0,32	4,40 ± 1,27	0,67 ± 0,06	0,63 ± 0,05	0,73 ± 0,05	20,03 ± 0,84	19,47 ± 0,74	20,70 ± 0,57
35	5,20 ± 0,35	5,30 ± 0,17	4,77 ± 0,45	0,67 ± 0,06	0,67 ± 0,05	0,70 ± 0,08	20,33 ± 0,58	19,57 ± 0,64	20,23 ± 0,54
37	4,93 ± 0,12	5,60 ± 0,26	5,06 ± 0,45	0,73 ± 0,06	0,73 ± 0,05	0,73 ± 0,05	20,90 ± 0,46	19,97 ± 0,64	20,73 ± 0,90
42	5,53 ± 0,80	5,53 ± 0,29	5,10 ± 0,30	0,73 ± 0,06	0,73 ± 0,05	0,73 ± 0,05	20,57 ± 1,22	19,40 ± 0,53	20,63 ± 0,49
44	5,33 ± 0,32	5,57 ± 0,29	5,32 ± 0,10	0,73 ± 0,06	0,73 ± 0,05	0,73 ± 0,05	20,00 ± 0,61	19,37 ± 0,40	20,83 ± 1,18

Objaśnienie: jak w tab. 1

Różnice istotne statystycznie w porównaniu do grupy kontrolnej zanotowano w 14., 16., 28., 30., 35. i 42. dniu doświadczenia. Analogiczne działanie wykazywało też podawanie cielętom tylozyny, której dodatek do paszy wpływał na zwiększenie we krwi ogólnej

liczby leukocytów, najbardziej nasilone w przedziale: 14.-23. dzień badania. Jednak wartości te w porównaniu z grupą cieląt kontrolnych nie były istotne statystycznie. Podobne tendencje zaobserwowano w przypadku odsetka komórek średniej wielkości, tzw. MID

Tab. 3. Średnie wartości wskaźników układu trombotycznego u cieląt żywionych paszą z dodatkiem tylozyny (gr. I), prebiotyków (gr. II) i kontrolnych (gr. III) ($\bar{x} \pm SD$)

Dzień badania	Parametry					
	PTL ($\times 10^9/l$)			MPV (fl)		
	I	II	III	I	II	III
0	504,7 \pm 73,12	504,3 \pm 3,21	495,7 \pm 13,80	6,40 \pm 0,30	6,13 \pm 0,52	6,67 \pm 0,42
2	456,3 \pm 25,38	510,0 \pm 9,29	517,7 \pm 18,72	6,17 \pm 0,12	5,83 \pm 0,26	6,53 \pm 0,52
7	506,7 \pm 37,65	511,7 \pm 3,06	504,7 \pm 13,05	6,07 \pm 0,42	5,83 \pm 0,26	6,50 \pm 0,36
9	491,0 \pm 80,88	512,1 \pm 16,09	450,7 \pm 19,73	5,83 \pm 0,21	5,70 \pm 0,29	6,63 \pm 0,51
14	452,3 \pm 61,45	492,7 \pm 44,12	444,0 \pm 31,75	6,03 \pm 0,50	6,00 \pm 0,45	6,30 \pm 0,30
16	457,3 \pm 87,96	498,6 \pm 15,04	440,3 \pm 6,81	5,80 \pm 0,36	5,80 \pm 0,24	6,37 \pm 0,17
21	440,3 \pm 50,81	487,3 \pm 41,05	420,7 \pm 8,50	6,20 \pm 0,30	6,03 \pm 0,09	6,37 \pm 0,12
23	490,7 \pm 86,41	480,6 \pm 26,41	459,3 \pm 34,99	5,97 \pm 0,21	6,97 \pm 1,16	6,13 \pm 0,19
28	458,3 \pm 63,81	476,6 \pm 2,79	451,3 \pm 9,62	5,83 \pm 0,38	5,87 \pm 0,38	6,30 \pm 0,24
30	506,3 \pm 15,82	489,9 \pm 65,96	465,0 \pm 39,28	5,93 \pm 0,23	5,77 \pm 0,17	6,77 \pm 0,90
35	554,3 \pm 80,21	525,0 \pm 10,00	469,0 \pm 10,15	5,93 \pm 0,12	5,80 \pm 0,14	6,43 \pm 0,47
37	523,3 \pm 23,09	519,3 \pm 32,53*	415,0 \pm 16,46	6,10 \pm 0,20	6,05 \pm 0,05	6,37 \pm 0,17
42	467,7 \pm 75,41	561,9 \pm 65,62*	417,0 \pm 22,33	6,20 \pm 0,52	6,10 \pm 0,08	6,30 \pm 0,14
44	493,3 \pm 15,28*	524,1 \pm 54,86*	391,3 \pm 24,94	5,87 \pm 0,12*	6,07 \pm 0,12	6,17 \pm 0,12

Objaśnienie: jak w tab. 1

(tab. 4). U cieląt otrzymujących dodatek prebiotyków (gr. II) wyraźny wzrost jego wartości nastąpił już w 9. dniu doświadczenia. Natomiast różnice istotne statystycznie obserwowano w przedziale: 23.-30. i 44. dzień badania. W grupie zwierząt żywionych paszą z dodatkiem tylozyny wartości MID utrzymywały się również na wyższym poziomie w porównaniu z grupą kontrolną począwszy od 16. dnia doświadczenia, niemniej jednak nie obserwowano różnic znamienych statystycznie.

Wzrostowe tendencje obserwowane były też w przypadku odsetka granulocytów obojętnochnych (PMNL) we krwi obwodowej cieląt (tab. 4), którego wartość zwiększała się wyraźnie zwłaszcza u cieląt otrzymujących dodatek tylozyny do paszy (gr. I).

Tab. 4. Średnie wartości wskaźników układu leukocytarnego u cieląt żywionych paszą z dodatkiem tylozyny (gr. I), prebiotyków (gr. II) i kontrolnych (gr. III) ($\bar{x} \pm SD$)

Dzień badania	Parametry								
	WBC ($\times 10^9/l$)			PMNL (%)			MID (%)		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
0	7,34 \pm 0,66	8,03 \pm 0,25	7,23 \pm 0,57	24,00 \pm 3,00	24,00 \pm 1,41	21,67 \pm 1,53	6,33 \pm 1,15	6,00 \pm 0,82	6,00 \pm 1,41
2	7,93 \pm 0,30	8,32 \pm 0,61	7,28 \pm 0,49	27,67 \pm 2,08	25,33 \pm 1,70	24,67 \pm 2,49	7,33 \pm 1,15	7,33 \pm 0,94	6,00 \pm 0,82
7	7,58 \pm 0,37	7,63 \pm 0,45	7,35 \pm 0,22	31,33 \pm 1,53	31,67 \pm 4,19	26,33 \pm 2,05	6,00 \pm 1,00	7,33 \pm 1,25	7,33 \pm 0,47
9	7,74 \pm 0,54	7,38 \pm 0,02	6,96 \pm 0,63	30,33 \pm 1,15*	28,33 \pm 0,47	25,67 \pm 1,70	7,00 \pm 1,73	8,67 \pm 0,47	7,00 \pm 0,82
14	9,60 \pm 1,84	10,60 \pm 0,70*	7,39 \pm 0,48	31,00 \pm 3,46	32,00 \pm 0,82	27,00 \pm 2,49	7,67 \pm 0,58	8,67 \pm 0,94	7,67 \pm 0,47
16	9,30 \pm 0,78	10,60 \pm 0,20*	8,83 \pm 0,83	30,33 \pm 2,08*	27,67 \pm 0,47	25,67 \pm 1,70	8,00 \pm 1,73	9,33 \pm 0,47	7,00 \pm 0,82
21	9,10 \pm 0,70	9,43 \pm 1,50	8,80 \pm 0,70	31,00 \pm 2,00*	27,67 \pm 2,05	25,33 \pm 0,47	7,67 \pm 1,53	9,00 \pm 0,82	7,67 \pm 0,47
23	9,07 \pm 0,65	11,00 \pm 1,74	8,57 \pm 0,31	29,33 \pm 2,52	27,33 \pm 1,25	25,67 \pm 1,25	8,00 \pm 1,00	9,00 \pm 0,82*	6,67 \pm 0,47
28	8,53 \pm 0,25	11,30 \pm 1,14*	7,47 \pm 1,63	33,67 \pm 3,21*	29,00 \pm 2,16	25,33 \pm 0,47	8,67 \pm 1,15	8,67 \pm 0,47*	6,67 \pm 0,47
30	8,43 \pm 0,87	11,77 \pm 1,17*	7,93 \pm 0,64	29,00 \pm 2,00	26,67 \pm 0,47	26,33 \pm 2,05	7,67 \pm 1,53	8,33 \pm 0,47*	6,33 \pm 0,47
35	9,50 \pm 0,72	11,30 \pm 1,06*	8,37 \pm 0,38	29,33 \pm 1,15*	25,67 \pm 1,70	22,33 \pm 1,70	8,33 \pm 1,53	8,67 \pm 1,70	7,67 \pm 0,94
37	9,07 \pm 0,15	10,77 \pm 1,80	8,68 \pm 0,25	29,33 \pm 2,52	33,00 \pm 0,82*	26,67 \pm 2,05	7,33 \pm 0,58	8,33 \pm 1,25	6,33 \pm 0,47
42	8,57 \pm 0,35	10,87 \pm 0,81*	8,20 \pm 0,61	33,00 \pm 4,36*	28,33 \pm 0,47	27,33 \pm 1,25	8,33 \pm 2,52	9,33 \pm 0,47	7,33 \pm 0,47
44	8,77 \pm 0,71	9,53 \pm 2,21	8,03 \pm 0,86	30,67 \pm 2,31	30,00 \pm 1,63	28,67 \pm 0,94	8,33 \pm 0,58	9,33 \pm 0,47*	7,33 \pm 0,47

Objaśnienie: jak w tab. 1

Stopniowy wzrost odsetka PMNL obserwowany był już od 2. dnia badania, kiedy to wynosił $27,67 \pm 2,08\%$ i zwiększył się maksymalnie do $33,67 \pm 3,21\%$ w 28. dniu doświadczenia. Natomiast różnice istotne statystycznie w porównaniu do cieląt kontrolnych zanotowano w 9., 16., 21., 28., 35. oraz 42. dniu badania. Natomiast w grupie II odsetek PMNL utrzymywał się na nieco wyższym niż w grupie kontrolnej poziomie, a najwyższą jego istotną statystycznie wartość zanotowano w 37. dniu eksperymentu.

Z kolei w przypadku ogólnego odsetka limfocytów (LYM) we krwi obwodowej cieląt bardziej jednoznaczne różnice zanotowano u cieląt grupy II (tab. 4). U zwierząt tych odsetek LYM był wyższy niż u pozostałych zwierząt przez cały okres obserwacji, a różnice znamienne statystycznie odnotowano w przedziałach: 14.-35. oraz 42.-44. dzień badania. Natomiast u zwierząt otrzymujących dodatek tylozyny (gr. I) odsetek limfocytów uległ wyraźnemu podwyższeniu w porównaniu z grupą kontrolną dopiero 23. dnia badania, ale uzyskane wartości wykazywały różnice statystycznie istotne tylko w 42. dniu badania i generalnie były one niższe niż w grupie II.

W badaniach terenowych oceniających ogólny stan zdrowotny cieląt stwierdzono, że u 6 zwierząt kontrolnych po 7-10 dniach od rozpoczęcia doświadczenia pojawiły się objawy ze strony układu oddechowego w postaci kaszlu, surowiczego-śluzowego wycieku z nosa i duszności. W dwóch przypadkach objawy te uległy znacznemu nasileniu i dołączyła się gorączka (powyżej 40°C , oddechy powyżej 70/minutę), dlatego też zwierzęta

biotyków (gr. II) i kontrolnych (gr. III)

LYM (%)		
grupa		
I	II	III
69,67 ± 3,21	70,00 ± 5,00	70,33 ± 1,25
63,33 ± 5,69	73,00 ± 2,00	69,67 ± 2,87
64,00 ± 5,29	67,67 ± 1,53	64,67 ± 5,44
68,33 ± 1,53	70,67 ± 1,53	65,33 ± 3,77
65,00 ± 2,65	70,67 ± 1,53*	60,33 ± 4,11
59,33 ± 3,06	67,33 ± 2,08*	59,33 ± 3,09
59,33 ± 2,52	67,00 ± 1,73*	59,00 ± 3,74
69,83 ± 3,33	75,33 ± 2,52*	64,33 ± 2,87
65,67 ± 4,93	71,33 ± 1,15*	59,00 ± 4,32
64,67 ± 4,51	68,67 ± 3,06*	58,00 ± 6,16
68,00 ± 3,61	71,00 ± 3,00*	62,33 ± 2,05
65,67 ± 2,08	69,00 ± 1,00	61,33 ± 6,94
63,33 ± 1,53*	68,67 ± 3,21*	57,67 ± 2,36
66,00 ± 2,00	69,67 ± 2,08*	59,67 ± 4,03

te wymagały natychmiastowego leczenia z udziałem odpowiedniego antybiotyku, który podano jednorazowo w postaci złożonego preparatu z niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym (Resflor w dawce 2 ml/kg m.c., s.c.). Z kolei u cieląt w grupie I i II przypadki o podobnym przebiegu występowały sporadycznie (2 zwierzęta w grupie I i 3 w grupie II), a objawy kliniczne były słabiej nasilone, co

nie wymagało podjęcia postępowania farmakologicznego. Natomiast w żadnej z badanych grup cieląt nie doszło do niekontrolowanego rozwoju choroby i w konsekwencji upadków zwierząt lub ich uboju z konieczności. Należy też dodać, że u niektórych cieląt w grupie I, w początkowym okresie podawania im tylozyny (1.-2. tydzień), wystąpiły przemijające problemy ze strony przewodu pokarmowego, objawiające się atonią żwacza i upośledzeniem łaknienia. Nie miało to jednak zasadniczego wpływu na późniejsze przyrosty masy zwierząt i ich ogólną kondycję.

Otrzymane wyniki badań wskazują, że podawanie cielętom w paszy zarówno tylozyny, jak i prebiotyków wpływa istotnie na pobudzenie układu erytrocytarnego i zdolności krwiotwórcze organizmu, manifestujące się wzrostem liczby erytrocytów i trombocytów oraz stężenia hemoglobiny i hematokrytu we krwi. Ogólne wartości liczbowe tych wskaźników mieściły się jednak w granicach norm uznawanych za fizjologiczne dla tego gatunku zwierząt (12). Z kolei w przypadku analizowanych zależności wyniki uzyskane u cieląt w następstwie podawania im prebiotyków różniły się nieco od danych publikowanych przez innych autorów, w tym Dobickiego i wsp. (3). Ci ostatni dowiedli bowiem, że stosowanie wyłącznie mannanooligosacharydów bez dodatku β -glukanów nie wpływa na proces erytropoezy i zwiększenie liczby erytrocytów. Dopiero pełnowartościowy preparat drożdżowy efektywnie oddziaływał na te procesy. Podwyższenie liczby erytrocytów pod wpływem podawania zwierzętom suszonych drożdży piwnych wykazano również w badaniach Milewskiego i wsp. (8), w których jednak inne, badane wskaźniki erytrocytarne kształtowały się na niższym poziomie (9). Konfrontując wyniki własnych badań z omawianymi wcześniej, wyłącznie MCHC pozostawało na wyraźnie niższym poziomie, natomiast wartości pozostałych parametrów erytrocytarnych były porównywalne, a nawet wyższe. Zmiany wskaźników hematologicznych świadczyć mogą też pośrednio o pozytywnym wpływie stosowanych dodatków na ogólny stan zdrowotny cieląt. Większość tych zmian u zwierząt eksperymentalnych, różniących się istotnie w porównaniu z kontrolnymi, pojawiało się dopiero w końcowym etapie badań. Wiadomo obecnie, że regulacja procesu trombopoezy uzależniona jest w dużej mierze od efektów działania IL-3 i 6 (5). Najbardziej nasilone zmiany związane z mechanizmem działania tych cytokin notowano właśnie pod koniec doświadczenia, tj. od ok. 37. dnia obserwacji. Początkowo bowiem pobudzone komórki efektorowe produkują IL-1, a ta z kolei uruchamia kaskadę syntezy kolejnych cytokin, w tym IL-6 i współdziałającej z nią IL-3. Pod wpływem obu wspomnianych cytokin dochodzi w rezultacie do pobudzenia krwiotworzenia również w zakresie trombopoezy, proliferacji i różnicowania pleuropotencjalnych komórek macierzystych i progenitorowych megakariocytów oraz granulocytów

i makrofagów (5). Wzrost we krwi liczby trombocytów (PTL) u cieląt eksperymentalnych nie wiązał się w zasadzie ze zmianami ich objętości (MPV). Należy też dodać, że pobudzenie krwiotworzenia, obejmujące też granulopoezę, przejawiało się dodatkowym wzrostem liczby granulocytów obojętnochłonnych (PMNL) oraz komórek typu MID (monocyty, eozynofile i bazofile) i to zarówno u cieląt otrzymujących tylozynę (gr. I), jak i prebiotyki (gr. II). Notowany w badaniach wzrost ogólnej liczby leukocytów we krwi (WBC) w grupie cieląt otrzymujących dodatek tylozyny był wynikiem podwyższenia liczebności PMNL oraz limfocytów. Prawdopodobny mechanizm działania prebiotyków, a zwłaszcza β -1,3/1,6-D-glukanów na zdolności krwiotwórcze szpiku, związany jest z uwalnianiem odpowiednich cytokin, takich jak IL-1 α , IL-2 i TNF- α , które następnie wpływają na te zdolności. Aktywne β -1,3/1,6-D-glukany posiadają bowiem zdolność łączenia się ze specyficznymi receptorami znajdującymi się na powierzchni komórek immunokompetentnych, a oddziaływując na nie, stymulują uwalnianie ww. cytokin. Do grupy tych receptorów zaliczono: Dectin-1 (trans membranowy receptor typu II), receptor dla fragmentu C₃ dopełniacza (CR3), receptory typu „zmiatacze” (scavenger receptors), receptor LacCer oraz TLR-2 (4, 7).

W przypadku tylozyny, jej udział w procesach krwiotwórczych organizmu związany jest, jak niektórzy uważają (1), z pobudzaniem komórek z grupy MPS (Mononuclear Phagocytes System), tj. głównie monocytów i makrofagów. Działanie tylozyny poprzez te komórki możliwe jest jednak, jak się wydaje, dopiero po przyłączeniu się do nich jego reszt cukrowych (mykarozy i mykaminozy) powstających w wyniku hydrolizy tylozyny w przewodzie pokarmowym. Wówczas

to, w następstwie ich przyłączenia dochodzi do pobudzenia komórek MPS i wydzielania odpowiednich cytokin, takich jak IL-1 α , IL-2 i TNF- α , które mogą wpływać na zdolności krwiotwórcze szpiku.

Piśmiennictwo

1. Baba T., Yamshita N., Kodama H., Mukamoto M., Asada M., Nakamoto K., Nose Y., Mcgruder E. D.: Effect of tylosin tartrate (Tylan soluble) on cellular immune responses in chickens. *Poult. Sci.* 1998, 77, 1306-1311.
2. Bricknell I., Dalmo R. A.: The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. *Fish Shellfish Immunol.* 2005, 19, 457-472.
3. Dobicki A., Preś J., Łuczak W., Szyrner A.: Wpływ dodatku suszonych drożdży piwnych na przyrosty masy ciała, wskaźniki fizjologiczno-biochemiczne krwi i rozwój drobnoustrojów żwacza cieląt. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 946-949.
4. Gantner B. N., Simmons R. M., Canavera S. J., Akira S., Underhill D. M.: Collaborative induction of inflammatory responses by Dectin-1 and Toll-like Receptor 2. *J. Exp. Med.* 2003, 9, 1107-1117.
5. Gołęb J., Jakóbiński M., Lasek W.: *Immunologia*. PWN, Warszawa 2002.
6. Grell E. R., Semeniuk V.: Konsekwencje wycofania antybiotykowych stymulatorów wzrostu z żywienia zwierząt. *Medycyna Wet.* 2006, 62, 502-506.
7. Guz L., Sopińska A.: Wpływ β (1,3)-D-glukanu i lipopolisacharydu na odporność karpia przeciwko *Aeromonas hydrophila*. *Medycyna Wet.* 2009, 65, 715-718.
8. Milewski S., Sobiech P.: Effect of dietary supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* dried yeast on milk yield, blood biochemical and haematological indices in ewes. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2009, 53, 753-758.
9. Szymańska-Czerwińska M., Bednarek D.: Wpływ tylozyny i prebiotyków na wybrane parametry odporności humoralnej u cieląt. *Medycyna Wet.* (w druku).
10. Szymańska-Czerwińska M., Bednarek D., Zdzisińska B., Kandefer-Szerszeń M.: Effect of tylosin and prebiotics on the level of cytokines and lymphocyte immunophenotyping in calves. *Centr. Eur. J. Immunol.* 2009, 34, 1-6.
11. Truszczyński M., Pejsak Z.: Wpływ stosowania u zwierząt antybiotyków na lekooporność bakterii chorobotwórczych dla człowieka. *Medycyna Wet.* 2006, 62, 1339-1343.
12. Winnicka A.: Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii. Wyd. SGGW, Warszawa 2002, 17-34.

Adres autora: dr Monika Szymańska-Czerwińska, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: monika.szymanska@piwet.pulawy.pl